Die Mikropylenverschlüsse der Gymnospermen mit besonderer Berücksichtigung desjenigen von Larix decidua Mill.

von

Wolfgang Himmelbaur.

Aus dem botanischen Institute der k. k. Wiener Universität.

(Mit 2 Tafeln und 2 Textfiguren.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 23. Jänner 1908.)

Historisches.

Mikropylenverschlüsse sind eine bei den Gymnospermen und insbesonders bei den Coniferen weitverbreitete Erscheinung. Das Zustandekommen dieser Einrichtung ist wohl durch die freie Lage des Nucellus bedingt und der biologische Nutzen eines solchen Verschlusses ist dann leicht erklärlich.

Schon bei fossilen Formen finden wir ganz unzweifelhafte Mikropylenverschlüsse. Lignier[1] beschreibt die Samenhülle von *Bennetites Morierei* und sagt p. 45: ».... le tube micropylaire du *B. Morierei* rapelle beaucoup celui du *Taxus baccata*. Le canal micropylaire, cylindrique dans sa partie inférieure (fig. 32) est, au sommet, réduit à une fente plus ou moins irrégulière (fig. 31). Sur une section transversale, l'épiderme, Ei, qui tapisse la fente micropylaire, est formée de cellules étroites et allongées radialement; certaines d'entre elles peuvent atteindre jusqu'à 64 μ de long sur 9 μ seulement de large.....«. Die Figuren 28 (in Wettstein's Handbuch

[1] Bei den Autoren siehe Literaturverzeichnis.

der system. Bot. aufgenommen), 31 und 32 erläutern das Gesagte.

Bei den Cordaitinen ist von M. B. Renault an einem Dünnschliff von *Cordaianthus Grand' Euryi* eine Samenanlage angetroffen worden, die von Solms-Laubach (1) und Kubart übereinstimmend erklärt wurde. Die in Wettstein's Handbuch wiedergegebene Abbildung weist ganz deutlich einen Verschluß der Mikropyle auf, den die beiden Erstgenannten durch das Längenwachstum der an die Mikropyle angrenzenden Zellen sich entstanden denken. Die schlauchartig verlängerten Zellen neigen sich der Nucellusspitze zu und der Verschluß ist vollendet. K. Schumann dagegen faßt diese Verschlußzellen als schon von Anfang an vorhanden auf und meint, die Pollenkörner seien durch das Einziehen des Bestäubungstropfens in die Pollenkammer geglitten. Dabei drückten sie diese Verschlußzellen auseinander. Jetzt, wo wir viele Gymnospermen mit nach der Bestäubung entstandenen Mikropylverschlüssen kennen, erscheint diese Auffassung wohl falsch.

Strasburger (2) macht auf p. 15 über *Gingko* folgende Bemerkung: »Nach der Bestäubung verdorren die beiden Lippen (des Integumentes), rollen sich häufig auch nach innen ein und durch Streckung der inneren Zellen des Mundes wird derselbe geschlossen.«

Über *Cephalotaxus* hat W. C. Worsdell gearbeitet und bringt in seiner Untersuchung auf Pl. XXXV in den Fig. 23 und 30 ganz deutliche Mikropylenverschlüsse zur Abbildung. Fig. 23 stellt einen radialen Schnitt durch eine »Blüte« dar, bei der man an den beiden Integumenten eine Anschwellung der Innenränder sieht. Fig. 30 ist eine Abbildung einer Samenanlage bald nach der Befruchtung und auch hier lassen die Konturen der Zeichnung den Verschluß der Mikropyle erkennen. Bei diesen beiden Abbildungen sind nämlich nur die Umrisse der Integumente und der Teile, die den Verfasser interessieren, gezeichnet.

Das gleiche gilt von der Zeichnung Coker's (2), die die bestäubte Samenanlage von *Cephalotaxus* im Winterzustand bringt (Fig. 1). Die Innenwände der Mikropyle sind geschwollen und — wenigstens auf einer Seite — vorgewölbt.

Strasburger (2) schreibt über *Cephalotaxus*: »Nach der Bestäubung schließt sich der Mund durch transversale Streckung und Vermehrung der Zellen« (p. 12).

Lawson (3) erwähnt: »The micropyle is a little longer than the sporangium, as shown in fig. 3, and remains open for some time after pollination.«

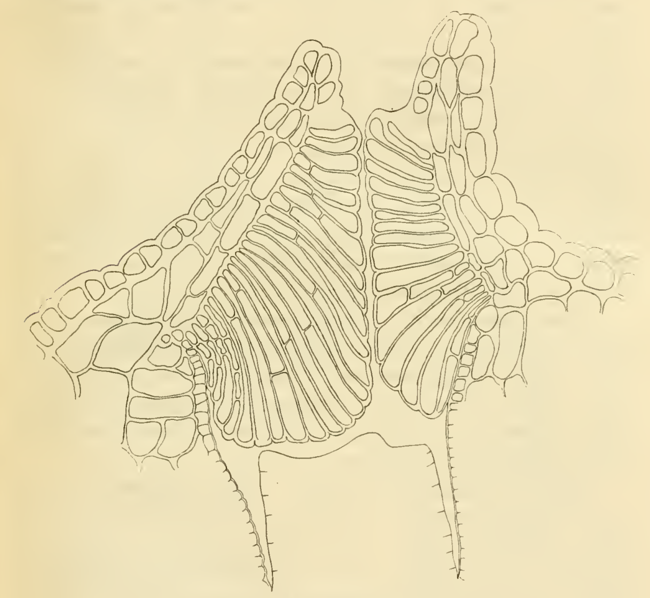


Fig. 1. *Cephalotaxus*.

Durch die Freundlichkeit von Dr. Porsch konnte ein Schnitt durch eine weibliche Blüte von *Cephalotaxus* untersucht werden. Die mittleren und unteren Zellen der innersten Zelllage des Integumentes sind in die Länge gewachsen und haben sich alle fast parallel in einem schwach S-förmigen Bogen gegen die Nucellusspitze gewendet und bilden so einen geschlossenen Raum über derselben. Einige dieser langgestreckten Zellen haben sich schon Querteilungen unterworfen (Fig. 1).

A. Robertson schreibt auf p. 142 ihrer Abhandlung über *Torreya* einige Worte über den Bestäubungstropfen. Dann bildet sie eine Zeichnung ab, auf der sie die oberste Spitze des Integumentes als cuticularisiert bezeichnet. Diese Umwandlung erscheint bemerkenswert.

Wieder war es möglich, durch Dr. Porsch Material aus Pisa zu erlangen, das den Verschluß der Mikropyle beendigt erscheinen läßt. Das Objekt war eben etwas alt. Die Entstehung des Verschlusses läßt sich daher nur erraten. Die beiden Integumenthälften sind als Ganzes keulenartig geschwollen. Diese Verbreiterung dürfte durch Streckung innerer hypodermaler Zellagen entstanden sein. Nachher gingen diese Querteilungen ein, so daß das ganze Gewebe parenchymatisch wurde. Eine Andeutung der longitudinalen Streckung findet sich noch in den tiefsten inneren subepidermalen Integumentzellen um den Nucellus. Eine Abbildung wird den Verschluß besser als alles Schildern zeigen (Fig. 2).

Was *Taxus* betrifft, so findet man bei Strasburger (2) auf p. 266 die kurze Angabe, daß sich nach der Bestäubung die vorher zierlich ausgebreitete Fruchtknotenmündung verdickt und den Kanal schließt. Ihre lippenartigen Ränder verdorren, neigen zusammen und legen sich aneinander. Ähnliches dürfte auch für alle anderen Taxaceen gelten.

Jäger bestätigt die Richtigkeit dieser Angaben, wenn er auch p. 245 Ausnahmen davon feststellen zu müssen glaubt. Auf p. 248 zitiert Jäger Strasburger (3) noch einmal in einer Stelle, wo es heißt (p. 111): »Die Embryosackmutterzellen treten erst scharf hervor, nach der Bestäubung, wenn das Integument fest am Scheitel zusammenschließt.«

Eine Stelle in W. C. Coker's (1) *Taxodium*-Untersuchung (p. 14) lautet: »At the time of pollination the tip of the integument is composed of about three layers of cells, but immediately after pollination the inner cells near the tip begin to grow in at certain points an approaching the center almost completely close the micropylar cavity.«

Die Fähigkeit gewisser Zellpartien des Integumentes, sich in kutinisierte oder verholzte Schichten umzuwandeln, erscheint von Wichtigkeit. So schreibt Jäger (l. c.) über *Taxus:* »Damit

dieser Mikropylengang nicht in sich selbst zusammenfällt — derselbe erreicht durch das Dickenwachstum des Integumentes eine ziemliche Länge — findet man immer zu beiden Seiten

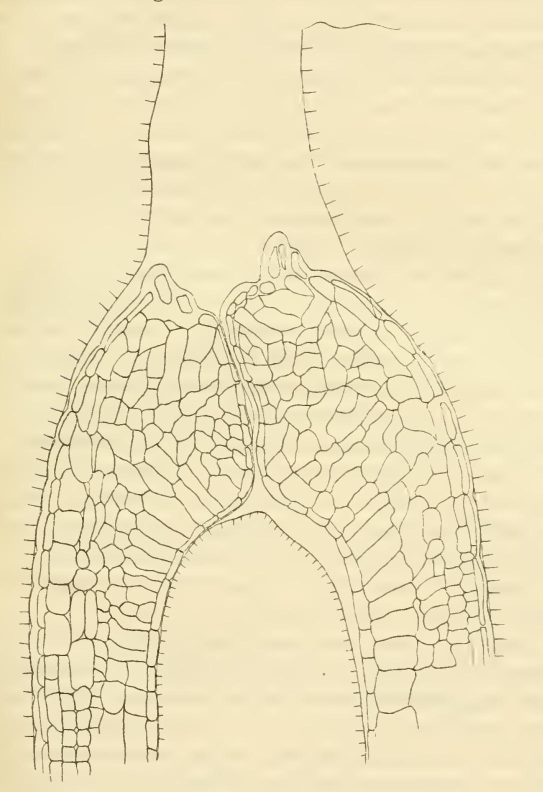


Fig. 2. *Torreya.*

der Mikropyle eine gelbe cuticularisierte Schicht (Taf. XV, Fig. 4).« Coker (1) (l. c.) sagt anschließend an die oben erwähnte Stelle in der *Taxodium*-Arbeit: »There soon begins to appear in the tip of the integument an irregular ring of lignified cells, with thick and pitted walls, which serves to strengthen this exposed end.« Jäger sowohl (Taf. XV, Fig. 4) wie Coker (1)

(Pl. III, Fig. 37, Pl. IV, Fig. 49) veröffentlichen Zeichnungen, die die von ihnen geschilderten Erscheinungen gut zeigen.

Cryptomeria hat auch einen Verschluß der Mikropyle aufzuweisen. Lawson (2) sagt: »The stager in development of the macrosporangium and the integument follow very closely those in Taxodium (Coker 1903) and Sequoia (Shaw 1896, Lawson 1904). There is one striking difference, however, and that is the advanced stage in the development of the integument before the differentation of the sporogenous cells in the nucellus. Fig. 9 shows the appearence of the nucellus and integument in section from material collected March 7. As a rule, however, the micropyle is much more open than that shown in the figure. Material collected before March 6 showed no trace whatever of sporogenous cells in the nucellus, although the integument extended considerably beyond the apex of nucellus, and in several cases the micropyle was found to be closed, shutting the pollen grains within. The closing of the micropyle is brought about in very much the same manner as in Sequoia. The subepidermal cells in the upper region of the integument which form the inner wall, become very much elongated in direction at right angles to the micropyle. The result is that as these cells elongate, the micropyle becomes smaller until the channel is finally closed completely.«

Lawson gibt in Fig. 9 seiner Arbeit ein sehr verständliches Bild dieses Verschlusses.

M. C. Ferguson hat einen Mikropylenverschluß bei *Pinus* konstatiert. Auf p. 46 ihres Werkes heißt es: »The free limb of the integument is seen in section to consist, at this time, of three layer of cells. As soon, as the pollen grains have found their way into the lower portion of the micropylar canal and some, at least, have come into contact with the tip of the nucellus, the cells constituting the middle layer of the arcus, at a point, slightly above the apex of the nucellus, elongate rapidly. The bulge or protuberance thus formed extends inwards from all sides and meets, closing the opening above the pollen grains (fig. 66 and 67). As soon, as the opening has been closed and the pollen grains secured, these elongated cells give rise by divisions to many smallers ones (fig. 68).«

Bei der Vortrefflichkeit und Genauigkeit der Arbeit erscheint der folgende Nachsatz etwas unvorsichtig: »This very pretty mechanism by which the final closing of the micropyle is effected has not been previously described for any Gymnosperm unless it be noted in Shaw's statement unaccompanied by figures, that the micropyle in Sequoia is closed by the radial elongation of the cells about it.« Zitiert die Verfasserin doch einige Arbeiten, in denen von Mikropylenverschlüssen direkt die Rede ist, und Shaw's Arbeit hat sehr deutliche Bilder eines Verschlusses aufzuweisen.

Was die chemischen Erscheinungen um die Mikropyle betrifft, heißt es auf p. 47: »Later a resinous substance is secreted, which securely seals the opening by which the pollen grains entered.«

Übrigens war Ferguson nicht die erste, die diesen Verschluß gesehen hat. Vergl. Strasburger (2), p. 268: »Der Ovarienmund war längere Zeit noch offen und erst später durch starke Verdickung des Randes geschlossen...«

Sequoia wird von Shaw untersucht und auch er entdeckt da einen Mikropylenverschluß, den er auf Pl. XXIV, 5, wiedergibt. Die im Text darauf bezugnehmende Stelle lautet: »Open flowers were collected for about a month during which time the integument grows out beyond the sporangium forming a vestibule into which a thick fluid substance is excreted. In this the pollen grains are caught and held....« Und weiter: »The micropyle then begins to close by radial elongation of the integument epidermal cells about it. In this way the pollen grains on the flat circular top of the sporangium become inclused in a subconical cavity, the micropyle. About the time, when the micropyle begins to close, the hypodermal tissue of two opposite sides of the integument begins to grow in a radial direction to form the wings of the seed. In some cases the thickening of the integument occurs on three or four sides, in the direction of least resistance, but only two wings are developed. About the middle of February, when the micropyle has closed, the hypodermal cells in that part of the integument which surrounds it, develop thick pitted walls, which appear to be lignified.«

Vor kurzem fand Kubart bei *Juniperus* einen Verschluß der Mikropyle, der sich in der Art seiner Entstehung an die übrigen anreiht. Auf p. 6 steht: »Die Wand des Integumentes besteht meist aus vier Zellschichten. Die zwei bis drei äußeren sind in die Länge gestreckt, die Zellen der innersten Zellschicht sind anfangs fast isodiametrisch, quadratisch im Flächenschnitte, nach der Bestäubung tritt jedoch ein schnelles Wachsen eines Teiles dieser Zellen ein und die Mikropyle wird durch diese Zellen verschlossen. Genau senkrecht auf die Richtung der drei anderen Zellschichten der Mikropyle wachsen diese Zellen der innersten Schichte — vergl. die Abbildung Taf. I, Fig. 4 — in die Länge, und sie übertreffen in ihrer endgültigen Gestalt die ursprünglichen Zellen um das Dreifache an Größe. Die Länge dieser »Verschlußzellen« beträgt 50 bis 55 μ. Diese Verschlußzellen schließen jedoch in der Mitte nicht fest aneinander, sondern es bleibt ein Kanal übrig, der zwischen die einzelnen Verschlußzellen viele Abzweigungskanäle entsendet.«

Bei keiner der bis jetzt beschriebenen Formen ist der Mikropylenverschluß hermetisch; immer bleiben ganze feine Spalten oder auch größere Zwischenräume frei. Ein vollständig hermetischer Verschluß ist ja auch nicht nötig.

Kubart bringt auch Längsschnitte durch die Mikropyle (Taf. I, Fig. 1, Taf. II, Fig. 1), auf denen der Verschluß sehr deutlich dargestellt ist.

Den Verschluß der Mikropyle bei *Juniperus* hat auch Norén gesehen. Er bringt das Wachstum der Verschlußzellen mit der Bestäubung in Zusammenhang. Der Verschluß soll eine Reizwirkung sein, die nur vom eigenen Pollen ausgeübt wird. Fremder Pollen, etwa von *Pinus* oder *Picea* bewirkt keine Reaktion des Integumentes. Derartige Abhängigkeitsbeziehungen wären nicht einzeln dastehend; es sei nur an gewisse Orchideen erinnert, wo sich der Embryosack erst nach der Bestäubung ausbildet (siehe Jost [p. 452] und Solms-Laubach [2]).

In zwei Arbeiten über *Gnetum* erwähnt Karsten (1, 2), daß sich infolge der Bestäubung die Mikropyle binnen einiger Zeit schließe. Bei *Gnetum edule* gehen aus den tiefstgelegenen

inneren Zellreihen des inneren Integumentes Sklerenchymzellen hervor, die, nach der Mitte zusammenrückend und miteinander verwachsend, den offenen Zugang versperren. Bei *Gnetum Gnemon* und *neglectum* ist das Verhalten ein ganz ähnliches, nur scheint die Verholzung des schließenden Gewebepfropfes zu unterbleiben.

Jüngst erschien von Pearson über *Welwitschia* eine Arbeit, in der auf Pl. 18, Fig. 18, eine Nucellusspitze mit den beiden Integumenthälften um sie abgebildet ist. Die innere Epidermis dieser Hälften besteht aus sehr großen Zellen, die, in die Länge gestreckt, sehr leicht die Mikropyle verschließen können. Strasburger (2) (p. 94) berührt das Mißverhältnis zwischen der Größe der Pollenkörner und der Weite des Mikropylenkanales und geht auf eine Stelle in Hooker's Arbeit über *Welwitschia* ein. Hooker glaubte nämlich, daß das Integument erst nach der Bestäubung voll auswachse. Er gelangte zu dieser Ansicht dadurch, daß er sich nicht erklären konnte, wieso 40 und mehr Pollenkörner, die er auf der Nucellusspitze antraf, durch den engen Mikropylenkanal hereinkämen. Seine Vermutung wurde aber von Strasburger (2) (p. 93 und 271) und Delpino (2) (p. 29 bis 30) auf Grund tatsächlicher Beobachtungen als falsch zurückgewiesen. Pearson schließt sich diesen Beobachtungen an (l. c., p. 273). Von einem Verschluß ist in den Arbeiten nicht die Rede, aber höchstwahrscheinlich ist auch hier ein solcher eingetreten.

Über *Ephedra* ist zu bemerken, daß Strasburger (2) (p. 95) auch eine Erwähnung über die großen Pollenkörner und den engen Mikropylenkanal macht (vergl. auch p. 271).

Luerssen erwähnt in seinem Handbuch die einzelnen Verschlüsse, so wie sie Strasburger gesehen. Der Teil über die Befruchtung der Gymnospermen ist ja ganz auf Strasburger's Arbeiten gegründet.

Der Mikropylenverschluß bei Larix.

Diese Arbeiten über Mikropylenverschlüsse waren mir bis jetzt zugänglich. Infolge der Häufigkeit derartiger Einrichtungen ist man wohl berechtigt, Mikropylenverschlüsse als eine allgemeine Erscheinung bei den Gymnospermen anzusehen.

Bei all den besprochenen Verschlüssen fallen zwei Dinge auf. Einerseits findet man das Wachstum von Zellagen des Integumentes in einer bevorzugten Richtung, wodurch die Mikropyle verschlossen oder zumindest verengt wird, andrerseits sieht man an der Integumentspitze Umwandlungsprodukte auftreten, die bald als holzig, bald als kutinisiert bezeichnet werden können. Der Zweck dieser Einrichtungen ist es, zum Teil die empfindliche Integumentspitze zu schützen, zum Teil die Pollenkörner durch Verstopfen der Mikropyle und chemische Begleiterscheinungen (Harzausscheidung, Bestäubungstropfen) festzuhalten. Eben diese zwei bezeichnenden Vorgänge werden uns auch bei *Larix* entgegentreten.

Schon Strasburger (1) hatte den Mikropylenverschluß gesehen. Er sagt p. 254: »Die Hälften des Integumentes wachsen nicht zu je zwei langen rechts und links gestellten Fortsätzen aus, wie sie uns bei *Pinus*-Arten, wo die Zuleitung der Pollenkörner von oben erfolgt, so vorteilhaft erschienen, sondern zu einem einseitig nach oben und innen orientierten, helmartig umgebogenen breiten Lappen, in den die an der Seite der Schuppe herabgleitenden Pollenkörner mit zwingender Notwendigkeit hineinfallen müssen. Die Pollenkörner werden in das Innere der Samenknospe aufgenommen, der einseitige Fortsatz verdorrt sehr bald, rollt sich nach innen zusammen und hilft so mit, die Mikropyle zu verschließen.«

Noch eine Arbeit über *Larix* gibt es, die fast ganz verschollen ist und in keiner der größeren Gymnospermenarbeiten zitiert wird. Geleznoff veröffentlichte vor 58 Jahren in den Ann. d. sc. nat. une Mémoire sur l'Embryogénie du Mélèze. Er schildert darin die Geschichte des männlichen und dann des weiblichen Gametophyten und kommt dabei auch auf das charakteristische Umbiegen ganzer Zellen und den so bewirkten Verschluß der Mikropyle zu sprechen. Die Arbeit bringt gute Einzelbeobachtungen, deren Deutung dem damaligen Wissen gemäß allerdings viel Unrichtigkeiten enthält. Sie ist von vortrefflichen Stichen begleitet und zeigt in den Fig. 13, 14, 15, 16, Pl. XIII, sehr schön das papillöse Wachsen der Epidermiszellen auf der Integumentspitze, einzelne Papillen stark vergrößert, Pollenkörner in den Integumentzipfeln

und endlich eingerollte Integumentzipfel und dadurch in die Mikropyle hineintransportierte Pollenkörner. In den darauf bezüglichen Textstellen wird der Verschluß und seine Entstehung geschildert, soweit es die Beobachtung an Handschnitten zuläßt. Von einer Umwandlung der obersten Integumentzellen in Kutin spricht Geleznoff nicht, obwohl er die Destruktion des Integumentrandes gesehen und die Bedeutung derselben geahnt hat (p. 199).

Eigene Untersuchungen.

Der Prozeß bei *Larix* war also der Hauptsache nach gegeben. Die Einzelheiten aber ließen allerlei Merkwürdigkeiten ersehen, um derenwillen es anregend war, die Entstehung des Verschlusses genauer zu verfolgen. Ein Gesamtbild des Verschlusses zeigt die Mikrophotographie (Taf. I, Fig. 1) eines Handschnittes. Handschnitte lassen gerade bei dieser Untersuchung den Mechanismus des Verschlusses viel plastischer hervortreten.

Methode.

Die mit den Zweigen gesammelten weiblichen Blüten wurden im Glase reifen gelassen, bestäubt und nach je 4, 6, 8 Tagen u. s. w. abgebrochen und fixiert. Länger als 10 bis 12 Tage hielt sich das Material nicht und die späteren Stadien mußten wieder im Freien gesammelt werden. Auf die Art kamen Stadien von 4, 6, 8 Tagen und zirka 2, 3, 4 bis 6 Wochen nach der Bestäubung zustande. Als Fixierungsflüssigkeit diente die sogenannte Flemming'sche Lösung (165 *g* Chromsäure 1%, 25 *g* Osmiumsäure 1%, 25 *g* Eisessig), die Juel'sche Lösung (2 *g* Zinkchlorid, 2 cm^3 Eisessigsäure, 100 cm^3 50% Alkohol), die Guignard'sche Flüssigkeit (½ *g* Eisenchlorid, 2 cm^3 Eisessigsäure, 100 cm^3 Wasser), das Pfeiffergemenge (gleiche Teile von 40% Formaldehyd, rektifiziertem Holzessig und Methylalkohol) und endlich absoluter Alkohol. Von diesen fünf Mitteln erwies sich die Chromosmiumessigsäure-Fixierung am allerbesten; in nächster Linie kommt dann das Pfeiffer'sche Gemenge in Betracht, was für derlei Untersuchungen von

großer Bedeutung ist, da die Objekte beliebig lange Zeit darin bleiben können.

Eine vorläufige Untersuchung der Samenanlagen geschah in Handschnitten, die eigentliche Untersuchung erfolgte an Mikrotomschnittserien von 10 μ Dicke. Diese wurden zum größten Teil mit Hämatoxylin gefärbt; für die Untersuchung einer später zu beschreibenden Erscheinung aber, nämlich des Auftretens und der Vermehrung einer klebrigen Masse an dem obersten Mikropylenende, zeigte sich die Safranin-Gentianaviolettfärbung als viel geeigneter, da sie die in der Masse zum Teil noch vorhandenen Erstbestandteile viel deutlicher hervortreten läßt als die Hämatoxylinfärbung.

Ergebnisse.

Die zwei Samenanlagen bei *Larix* stehen fast in einem rechten Winkel voneinander abgewendet. Sie sind schon in ihren Jugendstadien als kleine weiße Erhöhungen auf der Innenseite der Fruchtschuppe zu sehen. Ein Querschnitt zeigt den üblichen Bau der Coniferensamenanlage, eine tiefe Insertion des Nucellus und das Integument, von dem die der Achse der Infloreszenz nähere Hälfte viel größer als die andere ist und sich in manchen Fällen wirklich wie ein Helm über die Mikropyle neigt. Man kann sich den Bau dieser Mikropyle annähernd vorstellen, wenn man an die Blüten mancher Labiaten denkt. Strasburger (3) bringt Abbildungen, die diese Zustände gut verdeutlichen (Taf. X, Fig. 28, Taf. XI, Fig. 29 und 32).

Das Integument ist von einer Außenhaut umgeben, sein oberer Teil von auffallend großen Zellen erfüllt, die allmählich in dichteres Gewebe übergehen. Ein Integument in so jungem Stadium nun, in dem es noch vollkommen intakt ist und den im folgenden beschriebenen Desorganisationserscheinungen noch nicht unterliegt, stand nicht zur Verfügung,[1] aber die

[1] Geleznoff hat ein ganz junges Stadium untersucht. Die obersten Epidermiszellen des Integumentes sind da papillös vorgewölbt, mit einer glashellen Flüssigkeit erfüllt und sehr klein (Taf. II, Fig. 1). Später werden sie größer, verlieren ihre Flüssigkeit und erscheinen als dünner kutinisierter Belag am oberen Integumentteil. Hier setzen meine Untersuchungen ein (Taf. I, Fig. 2). Die Kutinisierung schreitet tiefer in die Mikropyle hinein.

gesammelten Objekte waren doch eben jung genug, um deutlich zu zeigen, wie die äußeren Membranen der den Mikropylengang auskleidenden Zellen der Epidermis im oberen Teile der Mikropyle verquellen, d. h. an Dicke zunehmen, und eine gleichmäßige, hie und da wellig gestreifte Masse liefern (Taf. II, Fig. 2 und 3).

Im Laufe dieser Umwandlung — das Umwandlungsprodukt ist eine kutinisierte Masse — werden nicht nur die äußeren Zellwände ergriffen, sondern der Prozeß schreitet auch nach innen fort und ergreift zunächst die Querwände, dann die der zuerst angegriffenen Schicht mehr minder parallelen Wände, dann auch anschließend innere, tiefer gelegene Zellen. Durch das Zusammenlegen und Aneinanderpressen dieser Elemente, wobei das Zellumen natürlich schwindet, entsteht eine im Naturzustand gelbe Masse, die schon makroskopisch als gelbliches Pünktchen an der Mikropyle erscheint (Taf. II, Fig. 4).

Je vorgeschrittener die Kutinisierung ist, je mehr Masse entsteht, desto komplizierter werden die Bilder, die sich darbieten. Man sieht — zumal an Freihandschnitten — die schon ausgebildete gelbe Masse, die sich den Umrissen des vorgewölbten Integumentes anschmiegt, aus dessen Elementen sie entstanden ist. Hie und da birgt sie noch in sich Reste der ehemaligen Zellwände, die, noch nicht umgewandelt, durch ihre andere Färbung — namentlich beim Safranin-Gentianaviolettverfahren — hervorleuchten.

Die Kutinisierung geht nur so weit, daß immer noch für Pollenkörner, die aufgenommen werden sollen, ein Raum übrig bleibt. Bei einem Objekt jedoch (Taf. II, Fig. 5) ist aus unbekannten Ursachen eine derartige Vermehrung der Masse eingetreten, daß die Endprodukte den ganzen Mikropylengang auskleiden und bis zur Nucellusspitze vordringen.

Wie nach und nach andere Schichten ergriffen werden, ohne daß das Zellumen schon schwindet, sieht man in vielen Fällen sehr gut (Taf. II, Fig. 6). An diesem Schnitt zeigt sich auch die andere bei allen Mikropylenverschlüssen auftretende Erscheinung, nämlich das Wachstum von Zellagen. Bei *Larix* sind es aber im Gegensatze zu allen bis jetzt besprochenen Verschlüssen die inneren intakten, auffallend großen Zellen

des Integumentes, die parallel der Mikropyle schlauchartig auswachsen. Dadurch wird der Mikropylenhals gestreckt und erscheint an älteren Objekten oft sehr lang. Am stärksten strecken sich die gegen außen liegenden Zellen. Die Lage des Zellkernes bei diesen Zellen ist verschieden.[1]

Die Funktion des Kutin wird klar, wenn man die Bestäubung verfolgt. Die bei *Larix* runden Pollenkörner kommen — wie Delpino (1) will — zu beiden Seiten des Kieles der Deckschuppe herabgeglitten und bleiben mit ihrer Exine an der Masse haften (Taf. II, Fig. 7). Dort, wo sie aufliegen, verquellen sie. Diese Befestigung ist so stark, daß, wenn durch irgend welche Umstände ein Pollenkorn platzt und sein Inhalt austritt, die Exine haften bleibt (Taf. II, Fig. 8). Am besten ließen sich diese Verhältnisse beobachten, wenn künstliche Bestäubung eingeleitet wurde.

Nach der beschriebenen Zellumwandlung und dem dadurch ermöglichten Festhalten der Pollenkörner tritt eine neue Phase auf. Die Spitzen der schlauchartig verlängerten Zellen des Hypoderma und der Epidermis biegen sich scharf um (Taf. II, Fig. 9). Querschnitte der Samenanlage, die in die Mikropyle hineinsehen lassen, zeigen, daß anfänglich nur die größere Integumenthälfte sich umbiegt (Taf. II, Fig. 10), später freilich kommt dann auch die kleinere an die Reihe und die beiden Seiten folgen (Taf. II, Fig. 11 und 13).

Dies Umbiegen bewirkt nun, daß die Kutinmasse und die an ihr klebenden Pollenkörner in die Mikropyle »hineintransportiert« werden (Taf. II, Fig. 12). Das Umbiegen schreitet immer weiter fort und in kurzer Zeit ist der ganze obere Teil des Integumentes in die Mikropyle hineingestülpt und die vorher die Außenseite umkleidenden Zellen berühren einander (Taf. I, Fig. 3 und 4). Daß sich zum Schlusse alle Teile, auch die Flanken, um- und hineingebogen haben, läßt ein Präparat erkennen (Taf. II, Fig. 13), bei dem sogar ein sehr seitlicher Anschnitt die schlauchförmigen Zellen zeigt, die, fortgesetzt

[1] Diese Tatsache könnte vielleicht zeigen, daß hier kein Wachstum von Zellen, sondern bloß ein Flüssigkeitsverlust eintritt. Bei beiden Annahmen werden große rundliche Zellen, die lebend im Verbande bleiben, langgestreckt.

und aus der Schnittebene hervortretend, man sich plastisch gegen den Beschauer gerichtet vorzustellen hat. Freilich, hermetisch ist die Pollenkammer nicht abgeschlossen; man sieht, wie die eingebogenen Zellzüge manchmal einen zellbreiten Gang zwischen sich lassen, aber der ist so eng, daß kein Pollenkorn heraus und keines mehr hinein kann.

So ist bei *Larix* ein Verschluß der Mikropyle entstanden, der abweichend von den bis jetzt geschilderten durch Desorganisation der obersten äußeren Integumentzellen und durch schlauchartiges Verlängern der obersten inneren Zellen (Hypoderma und Epidermis) sowie durch darauffolgendes Umbiegen letzterer zustande kommt. Nach außen liegen dann völlig unberührte Zellen, denn die umgewandelten Zellen sind alle einwärts gebogen (Taf. I, Fig. 1, 3 und 4, Taf. II, Fig. 13). Der Innenraum zwischen Nucellus, Mikropylenkanal und Kutinmasse nimmt oft eine flaschenhalsförmige Gestalt an, wie z. B. Stadien von 6 Wochen zeigen. Bei der Samenreife verholzt das Integument und nur ein schmaler, sehr dünner Kanal an Stelle der ehemaligen Mikropyle schwächt die Hülle und ermöglicht der Wurzel das Durchbrechen des Integumentes. Von dem charakteristisch umgebogenen Verschlusse sind bloß Reste außerhalb dieses sklerenchymatischen Gewebes zu sehen.

Die Masse erwies sich als kutinisiert.[1] Handschnitte sowie Mikrotomschnitte wurden den üblichen Reaktionen unterworfen, wie sie Zimmermann und Strasburger (4) angeben.

Die Gummireaktionen verliefen negativ, die Reaktionen auf Kallose-, Zellulose- und Pektoseschleime ebenfalls. Aus reiner Zellulose bestand die Masse auch nicht. Dagegen ergaben die Kutinreaktionen folgende Resultate:

Alkannatinktur .... rotgelb
Sudan III .... rot
verd. KOH und Chlorzinkjod ... violett
Anilinsulfat .... gelb bis hellgelb
KOH, konzentriert............ schwefelgelb

[1] Die Bezeichnung Kutin ist selbstverständlich als Sammelbegriff aufzufassen.

Safranin .... rot
Chlorzinkjod .... gelblich
Jod + H_2SO_4 .... gelb, sehr stark
Gegen Chromsäure .... sehr widerstandsfähig
In Alkohol .... unlöslich
H_2SO_4 .... gelb[1]
Gegen trockene Hitze .... widerstandsfähig
Kochen in Glyzerin .... wirkungslos

Kochen in KOH, das Kutin zu gelben Tröpfchen gerinnen machen sollte, war wegen der Kleinheit der Masse nicht besonders günstig für das Erkennen ihres Wesens. Daß mit Kongorot eine rote und mit Methylenblau eine blaue Färbung erzielt wurde, ist wohl nichtssagend, da diese Stoffe fast alles färben.

Eine Reaktion wäre noch zu erwähnen, nämlich die mit Phlorogluzin und Salzsäure. Diese bewirkt für ganz kurze Zeit (10 bis 30 Sekunden) eine deutliche Violettfärbung, die dann spurlos verschwindet. Nun erwähnt Strasburger (4) auf p. 280 und 281, daß Gummimassen auf Zweigquerschnitten, die Gummosis zeigen, die gleiche, aber bleibende Reaktion geben. Es tritt diese Färbung nur in der Nähe der sich desorganisierenden Zellen auf, und zwar insoweit nur, als jene Zellen verholzt waren. Diese Färbung mag auf dem Vorhandensein gewisser Holzsubstanzen beruhen.

Auch hier bei *Larix* haben wir Desorganisationserscheinungen. Deren Endprodukt — die gelbe Masse — und ebenso die noch in Umwandlung begriffenen Zellmembranen in nächster Nähe zeigen genau die gleiche Reaktion. Es ist der Schluß erlaubt, daß auch hier neben dem Umwandlungsprodukt, dem Kutin, Holzsubstanzen vorkommen. Phlorogluzin allein kommt bei Coniferen häufig vor (siehe die Arbeiten von Waage, Weinzierl, Wiesner).

---

[1] Im Naturzustand ist die Masse gelb. Nach den betreffenden Reaktionen tritt aber immer eine so deutliche Änderung der Farbenqualität ein, daß beim Vergleichen mit der nicht behandelten Masse die Bezeichnungen hellgelb, schwefelgelb etc. am Platze sind.

Um aber die Schwierigkeiten zu kennzeichnen, die uns bei der Beurteilung der Phlorogluzin-HCl-Reaktion entgegentreten, sei bloß erwähnt (Czapek), daß Wiesner und Singer (diese Sitzungsberichte, Bd. LXXXV [1], Maiheft, 1882) Vanillin und Koniferin in verholzten Zellmembranen annahmen und die Phlorogluzinreaktion als Vanillinreaktion ansahen; Czapek dagegen (Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVII, p. 141 [1899]) findet die Phlorogluzin-HCl-Reaktion im Hadromal wieder (Ggschrft. Grafes, diese Sitzungsberichte, Bd. CXIII, Abt. I, Mai 1904). Lindt (Zeitschr. wiss. Mikrosk., Bd. II, p. 495 [1885]) gibt an, daß auch Derivate von Phlorogluzin mit Vanillin und HCl Rotfärbung geben. Verholzte Membranen können schon durch HCl allein rotgefärbt werden (Mulder, Physiol. Chemie [1884], p. 449, 472, 477, 493; Hartig, Bot. Ztg. [1855], p. 222; Boehm, diese Sitzungsberichte, 1862, Bd. II, p. 399), wenn sie Stoffe enthalten, die leicht Phlorogluzin abspalten u. s. w. Für genauere Angaben sei auf Czapek unter Coniferin, Hadromal, Lignin, Phlorogluzin, Vanillin etc. verwiesen.

Der geschilderte Vorgang, nämlich das Verkutinisieren der Zellen um die Mikropyle und die fortschreitende Kutinisierung der nächsten Zellen, sowie das darauffolgende Einkrümmen des oberen Randes des Integumentes mit der Kutinmasse in die Mikropyle hinein findet in einem Zeitraume von 2 bis 3 Wochen nach dem Stäuben statt. Hiebei ist es gleichgültig, ob eine Bestäubung erfolgt ist oder nicht. Beweis dafür ist ein Objekt, das, völlig unbestäubt gelassen, ein Auftreten der Kutinmasse zeigt, sowie mehrere zufällig unbestäubte Objekte von 1907, die vollkommen den Verschluß zeigen.

Ein im Wiener botanischen Garten stehender Baum von *Larix sibirica*, der 1907 zwei ♀ Infloreszenzen trug, von denen eine in einem ziemlich vorgerückten Stadium untersucht wurde, zeigte einen Zustand des Verschlusses, der auf den gleichen Prozeß wie bei *Larix decidua* schließen läßt.

Die klebrige Masse mag wohl den Bestäubungstropfen der Gymnospermen zum Teil ersetzen, ein solcher wurde nicht beobachtet. Bloß die allerjüngsten Epidermiszellen des Integumentes sind mit einer klaren Flüssigkeit erfüllt (Geleznoff), wie es für *Pinus* nach Strasburger (2) (p. 267) charakteristisch

ist. Unter normalen Umständen blüht *Larix* in unseren Gegenden Mitte März, so daß anfangs April der Verschluß eingetreten und alles zur Befruchtung reif ist. Geleznoff verfolgte die Entwicklung des Embryosackes ziemlich genau. Die Pollenkörner treiben sehr lange Schläuche (Taf. 14, Fig. 12). Die Befruchtung erfolgt in unseren Gegenden um die Mitte Juni. Die Deckschicht der auffällig großen Eizelle hat Geleznoff auch gesehen (Taf. XIV, Fig. 7). Den Tüpfel am Pollenschlauchende sowie den Übertritt der Spermakerne zeigt Taf. XV, Fig. 1 und 2.

Zusammenfassung.

Auch *Larix* weist einen Mikropylenverschluß auf. Die Epidermiszellen des Integumentrandes und die darunter liegenden Zellen an dem ins Freie führenden Ende des Mikropylenkanales werden fortschreitend desorganisiert, und zwar kutinisiert. Die Außenwand des Integumentes (Hypoderma und Epidermis) verlängert sich dabei durch schlauchartiges Wachstum ihrer Zellen und biegt sich zuletzt deutlich um — in die Mikropyle hinein. Dadurch werden die Kutinmasse und die etwa an ihr haftenden Pollenkörner in das Innere der Samenanlage hineintransportiert.

Die biologische Bedeutung dieses Vorganges ist klar: Durch das Auftreten von Kutin an der empfangenden Integumentspitze wird eine klebrige Substanz geschaffen, die die Pollenkörner festhält. Das Umbiegen der Integumentspitze in den Mikropylenkanal bewirkt zweierlei: Erstens werden die Pollenkörner, die meist regellos, oft ganz unnütz auf der ziemlich breiten »Narbe« kleben, dem Nucellus genähert und können so auf ökonomische Weise Pollenschläuche treiben, zweitens wird die Mikropyle verschlossen, wobei auch das wasserundurchlässige Kutin mithilft. Die Einrichtung des Verschlusses aber gewährt den Pollenkörnern Schutz während der langen Zeit zwischen Bestäubung und Befruchtung, — die ein Rest der Selbständigkeit der sexuellen Generation ist.

Alle diese drei Vorgänge: Kutinbildung, Umbiegen, Verschließen, erhöhen die Befruchtungsmöglichkeit.

Zum Schlusse sei allen denen, die mich bei der Ausführung dieser Arbeit mit Rat und Tat unterstützten, und vor allem meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor v. Wettstein, aufs wärmste gedankt.

Literaturnachweis.

Coker, W. C.: 1. On the gametophytes and embryo of Taxodium (Bot. Gaz., XXXVI, 1903).

— 2. Fertilization and Embryogeny in Cephalotaxus Fortunei (Bot. Gaz., XLIII, 1907).

Czapek, Fr.: Biochemie der Pflanzen (Jena, 1905).

Delpino, F.: 1. Altri apparecchi dicogamici recentamente osservati (Referat Bot. Ztg., 1871, Sp. 126).

— 2. Ulteriori osservazioni sulla dicogamia nel regno vegetale.

Ferguson, M. C.: Contributions to the knowledge of the life history of Pinus, with special reference to sporogenesis, the development of the Gametophytes and fertilization (Proceedings of the Washington Academy of Sciences, VI, 1904).

Geleznoff, M.: Mémoire sur l'Embryogénie du Mélèze (Ann. d. sc. Nat. Bot., 14 [1850]).

Hooker, J. D.: 1. On Welwitschia, a new Genus of Gnetaceae (Trans. of the Linn. Soc., London, XXIV, 1863) (deutsch. Ref. von Eichler in Flora, XXI, 1863).

Jäger: Beiträge zur Kenntnis der Endospermbildung und zur Embryologie von *Taxus baccata* (Flora 1899, Bd. 86).

Jost L.: Vorles. über Pflanzenphysiologie. Jena, 1904.

Karsten, G.: 1. Beitrag zur Entwicklungsgeschichte einiger *Gnetum*-Arten (Bot. Ztg., 1892, Nr. 14).

— 2. Zur Entwicklungsgeschichte der Gattung *Gnemon* (Cohn: Beitr. z. Biol. d. Pflz., VI, 1893).

Kirchner-Loew-Schröter: Lebensgeschichte der Blütenpfl. Mitteleuropas (I. Bd., Stuttgart, 1906).

Kubart, B.: Die weibliche Blüte von *Juniperus communis* L. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss. in Wien, Bd. CIX, Juni 1905).

Lawson: 1. The Gametophytes, Archegonia, Fertilization and Embryo of Sequoia sempervirens(Ann. of bot., XVIII, 1904).

— 2. The Gametophytes, Fertilization and Embryo of Cryptomeria Japonica (Ann. of bot., XVIII, 1904).

— 3. The Gametophytes, Fertilization and Embryo of Cephalotaxus drupacea (Ann. of bot., XXI, 1907).

Lignier: Végétaux fossiles de Normandie. Structure et affinités du Bennettites Morierei Sap. et Mor. (Mém. d. Soc. Linn., Norm. 1894—1895).

Luerssen: Handbuch der system. Bot. (II. Bd., Leipzig, 1882).

Norén, C. O.: Zur Entwicklungsgeschichte des *Juniperus communis* (Upsala, Univ. Årskkrift, 1907).

Pearson: Some observations on Welwitschia mirabilis Hooker f. (Phil. Trans. R. Soc. London, Vol. 198).

Renault, M. B.: Structure comparée de quelques tiges de la Flore carbonifère (Nouv. Arch. du Mus., Sér. II, vol. 2, 1879).

Robertson, A.: Studies in the morphology of Torreya californica (New Phytologist, 3).

Schumann, K.: Über die weibliche Blüte der Coniferen (Abhdlg. d. bot. Ver. Prov. Brandenb., 1902).

Shaw: Contributions to the life history of Sequoia sempervirens (Bot. Gaz., XXI, 1896).

Solms-Laubach: 1. Einleitg. in die Paläophytologie (Leipzig, 1887).

— 2. Bot. Ztg. (58 [1900], II. Abt., p. 376).

Strasburger: 1. Die Bestäubung der Gymnospermen (Jen. Zeitschr. für Naturw., Bd. VI, 1871).

— 2. Coniferen und Gnetaceen. Jena, 1872.

— 3. Angiospermen und Gymnospermen. Jena, 1879.

— 4. Das bot. Praktikum (IV. Aufl., Jena, 1902).

Waage, Th.: Über das Vorkommen und die Rolle des Phlorogluzin in der Pflanze (Ber. Deutsch. bot. Ges., VIII, 1890).

Weinzierl, Th. v.: Über die Verbreitung des Phlorogluzins im Pflanzenreiche (Öst. bot. Zeitschr., XXVI, 1876).

Wettstein, R. v.: Handbuch der system. Bot. (II. Bd., I. Teil, Leipzig-Wien, 1903).

Wiesner, J.: Über das Verhalten des Phlorogluzins und einiger verwandter Körper zu verholzten Zellmembranen. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wiss., Bd. LXXVII [1], p. 60 [1878].

Worsdell, W. C.: The morphology of the »flowers« of Cephalotaxus (Ann. of Bot., XV, 1901).

Zimmermann: Die bot. Mikrotechnik. Tübingen, 1892.

Figurenerklärung.

Taf. I (Mikrophotographien).

Fig. 1. *Larix decidua.* Gesamtbild eines Handschnittes durch eine Samenanlage. Zeigt den Nucellus mit Resten des Prothalliums und die eingekrümmte Integumentspitze. 4 Pollenkörner, die an der Kutinmasse (schwarzer Fleck) kleben, sind in die Mikropyle hineintransportiert (zirka × 30).

Fig. 2. Jüngstes Stadium. Die papillösen Epidermiszellen der keulenförmigen linken Integumenthälfte sind schon desorganisiert und bilden einen dünnen Kutinbelag. Nicht median (zirka × 30).

Fig. 3. Ein ähnliches Bild eines Handschnittes wie bei 1.

Fig. 4. Detto. Die Kutinmasse ist bei beiden Figuren als schwarzer Fleck zu sehen. Bei Fig. 4 links ein Pollenkorn (beide zirka × 30).

Taf. II.

Fig. 1 (nach Geleznoff, Pl. XIII, Fig. 14). Einige papillöse Zellen, die in den jüngsten Stadien die Oberfläche des Integumentrandes bedecken (der Zellkern an der Spitze der Zelle! Diese Zellen fallen später als erste der Kutinisierung anheim. Siehe Taf. 1, Fig. 2). Vergr. nicht angegeben.

Fig. 2. Junges Stadium des Integumentes. Nicht median geschnitten. Bei *m* ein Ausschnitt des Mikropylenkanales. In der Fortsetzung nach außen Beginn der Umwandlung der äußeren Zellmembranen bei *u*. Weiter hinaus eine schon umgewandelte, kutinisierte Zellmembran (*c*), im äußersten Teile zerknittert. *c* stand wahrscheinlich mit den rechts befindlichen Teilen (*e*) im Zusammenhang. Bei *f* sind auch schon innere Zellen ergriffen (zirka × 250).[1]

---

[1] Die Vergrößerungsangaben geben durchwegs die Vergrößerung an, bei der die Zeichnung hergestellt wurde; bei der lithographischen Reproduktion wurden die Zeichnungen auf die Hälfte verkleinert.

Fig. 3. Der untere Teil der vorigen Zeichnung vergrößert. Buchstaben wie bei 2. In der Kutinmasse noch hie und da Reste der ehemaligen Zellwand (× 440).

Fig. 4. Das Integument in der gleichen Partie gesehen wie bei 3. Vorgeschrittenes Stadium der Kutinisierung. Bei *m* die Mikropyle, median. Bei *c* kutinisierte Zellmembranen, die sich aneinanderzulegen beginnen. Man erkennt noch in der rechten Hälfte die noch nicht kollabierten Zellen. Links ein kompliziertes Gemenge von kutinisierten Zellmembranen und noch nicht ganz umgewandelten Resten. Alles schon sehr zusammengedrückt. Die äußeren Epidermiszellen auffallend gestreckt (× 440).

Fig. 5. Ungewöhnliche Vermehrung des Kutins, das den Nucellus (*n*) erreicht (× 250).

Fig. 6. Schlauchförmiges Wachstum der Zellen des helmförmig gewölbten Integumentes bei *s*, Nucellus *n*. Die kleinere Integumenthälfte zeigt, wenn auch nur in geringer Andeutung, ein Verlängern ihrer Zellen. In beiden Fällen bloß Epidermis und Hypoderma gestreckt (zirka × 250).

Fig. 7. 2 Pollenkörner in der Kutinmasse klebend. Exine verquollen. Jedes Korn mit 3 Kernen (× 440).

Fig. 8. 2 Exinen, die in der Kutinmasse kleben geblieben sind (*e*). Eine ganz ohne Inhalt, die andere noch mit Inhalt versehen. Rechts 3 Reste vom Pollenkörnerinhalt anderer Exinen (zirka × 250).

Fig. 9. α) Eine schematische Übersicht einer Samenanlage. *n* Nuzellus, *J* Integument. Der unter der Linie (*l*. . .*l*) gelegene schraffierte Teil ist in β) vergrößert dargestellt.

β) Die größere Integumenthälfte in ihrem unteren Teile. Die Epidermiszellen und das Hypoderma haben sich scharf gegen das Innere der Mikropyle gebogen (*g*) und transportieren so im Laufe der Umbiegung die Kutinmasse gegen den Nucellus (× 440).

Fig. 10. Querschnitt durch die Mikropyle; vorläufig sind bloß die äußeren Zellen des helmartigen Integumentlappens verlängert (*a*). Die der Rhachis nähere Integumenthälfte besteht noch aus kleinen parenchymatischen Zellen (*p*) (× 300).

Fig. 11. Die kleinere Integumenthälfte (*i*) beginnt sich einzukrümmen. Nichtmedian (zirka × 250).

Fig. 12. In die Mikropyle »hineintransportierte« Pollenkörner (*p*) (zirka × 250).

Fig. 13. Seitlicher Anschnitt durch einen Integumenthals nach Beendigung des Verschlusses. Die beiden Integumentflanken (*f*) sind auch umgebogen. Der Unterschied zwischen der größeren und kleineren Integumenthälfte (*i*) ist durch die Einstülpung ausgeglichen (zirka × 250).

Die Zeichnungen sind mit J. Kettners Zeichenapparat hergestellt; die Aufnahme der Mikrophotographien geschah in der k. k. Graphischen Lehr- und Versuchsanstalt Wien.



Fig. 3

Fig. 4

Fig. 2

Fig. 1

Autor phot.

Lichtdruck v. Max Jaffé, Wien.

